

平成21年4月9日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19890213
 研究課題名（和文）糸球体上皮細胞におけるアクチン線維再構成の解析をととした蛋白尿発症機序の解明
 研究課題名（英文）The role of actin re-organization of podocytes in the pathogenesis of proteinuria

研究代表者

浅沼 克彦 (ASANUMA KATSUHIKO)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：60449064

研究成果の概要：

われわれはこれまで、糸球体上皮細胞（ポドサイト）のアクチン骨格に特異的に発現する蛋白であるSynaptopodinの遺伝子を用い、yeast two-hybrid screeningを施行することにより、Synaptopodinの蛋白機能解析を行い、 α -actinin4とIRSp53がSynaptopodinと結合しポドサイトのアクチン骨格再構成にかかわっていることin vitroで示してきた。現在、それらの現象が、in vivoにおいても何らかの役割を担っていることを確認することを目的に、アドレマイシン(ADR)を使用したマウスのネフローゼ・糸球体硬化モデルの確立を行った。ADR腎症マウスの組織学的検討によりネフローゼモデルとしてだけではなく、糸球体硬化モデルとしても有用であることを見つけた。また、その糸球体硬化の原因が、ポドサイトのアポトーシスと糸球体基底膜からの脱落によるものであることin vitroとin vivoで確認した。さらに、このポドサイトのアポトーシスが引き起こされる機序が、スリット膜蛋白の一つであるdendrinがスリット膜の裏打ち部からポドサイトの核に移行することにより誘発されることを見出している。さらに、ヒト腎疾患についてのdendrinの発現を確認するため、ヒトdendrinに反応する抗体の作成を行った。その抗体を用い、ヒト腎疾患に対して免疫染色を行ったところ、障害の程度によりdendrinがスリット膜から核へ移行しうることを確認している。現在、作成中の遺伝子改変マウスへこのモデルを使用し、ポドサイトのアクチン骨格の変化を検討している。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,320,000	0	1,320,000
2008年度	1,350,000	405,000	1,755,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,670,000	405,000	3,075,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：腎臓内科

キーワード：糸球体上皮細胞、蛋白尿、糸球体硬化

1. 研究開始当初の背景

糸球体上皮細胞は、血液濾過の最終バリアと

して重要な役割を担っている。糸球体上皮細胞障害から糸球体上皮細胞の形態変化が起

き、最終的に著明な蛋白尿が生じることが知られている。したがって、糸球体上皮細胞の足突起はアクチン骨格により支持されており、糸球体上皮細胞のアクチン骨格制御のメカニズムを解明することは、蛋白尿発症のメカニズムの解明と蛋白尿の新規治療薬の開発につながると考えられる。

2. 研究の目的

糸球体上皮細胞特異的に発現する蛋白の蛋白機能解析を通し、糸球体上皮細胞の蛋白尿(ネフローゼ症候群)発症時における足突起の細胞骨格変化のメカニズムを解明することを目的としている。

3. 研究の方法

今まで、マウスのネフローゼ症候群・糸球体硬化モデルがなかったが、最近、アドレアマイシン(ADR)をマウスに静脈注射すると蛋白尿が生じることが報告された。我々は、マウスに投与する ADR 量を決め、免疫染色、電顕、免疫電顕、光顕により糸球体障害時のアクチン骨格の変化とアクチン関連蛋白などの発現変化と局在変化を観察する。また、アクチン骨格を制御する Rac1 のポドサイト特異的トランスジェニックマウスとノックアウトマウスを作成する。

4. 研究成果

ADR の投与によりマウスネフローゼ症候群・糸球体硬化モデルを確立した。さらに、本モデルの糸球体硬化進行のメカニズムが、糸球体上皮細胞の糸球体基底膜からの脱落

によって起こり、その脱落は dendrin という蛋白が糸球体上皮細胞のスリット膜部から核へ移行することにより apoptosis が誘発されることにより導かれることが判明した。

Rac1 トランスジェニックマウスとノックアウトマウスは作成中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

1. 浅沼克彦、富野康日己. 腎糸球体上皮細胞 (ポドサイト) におけるアクチン骨格制御. *日本腎臓学会誌*. 50:532-9, 2008

2. 浅沼克彦、富野康日己. ポドサイトのアクチン骨格とシグナル伝達系. *医学のあゆみ*. 226:7358-7364, 2008

3. 浅沼克彦、浅沼悦子、富野康日己. 糸球体上皮細胞 (ポドサイト) におけるアクチン線維再構成と蛋白尿との関係. *腎と透析* 226:7358-7364, 2008

4. Asanuma K, Yanagida-Asanuma E, Takagi M, Kodama F, Tomino Y. The role of podocytes in proteinuria. *Nephrology*. 12:S15-S20, 2007

5. Faul C, Asanuma K, Yanagida-Asanuma E, Kim KH, Mundel P. Actin up: regulation of podocyte structure and function by

components of the actin cytoskeleton.
Trend Cell Biol. 17: 428-37, 2007

〔学会発表〕（計 5 件）

1. 浅沼克彦、浅沼悦子、Peter Mundel、富野康日己. ポドサイトのアクチン骨格における Synaptopodin と IRSp53 の役割. 日本腎臓学会誌. 49(3)238. 2007(日本腎臓学会総会)

2. 浅沼克彦、富野康日己. 糸球体上皮細胞のアクチン骨格 (Synaptopodin の蛋白機能解析から) 日本腎臓学会誌. 2007 (日本腎臓学会東部会シンポジウム)

3. Miyuki Takagi, Katsuhiko Asanuma, Humiko Kodama, Etsuko Asanuma, Peter Mundel, Yasuhiko Tomino. Evaluation of Podocyte Injury in Mouse Adriamycin (ADR) Nephropathy. ASN Annual Meeting, 2007. Saturday, November 3, 2007

4. 高木 美幸, 浅沼 克彦, 児玉 史子, 浅沼 悦子, 富野 康日己. マウスアドリアシン(ADR)腎症におけるポドサイト障害へのアポトーシスの関与, 日本腎臓学会総会、2008年5月日(福岡)

5. Miyuki Takagi, Katsuhiko Asanuma, Fumiko Kodama, Etsuko Asanuma, Yutaka Kanamaru, Peter Mundel, Yasuhiko Tomino. Evaluation of podocyte apoptosis and glomerulosclerosis in mouse adriamycin

(ADR) nephropathy .11th Asian Pacific Congress of Nephrology, May/ 5-8/ 2008 (in Kuala Lumpur)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

浅沼 克彦 (ASANUMA KATSUHIKO)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：60449064

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者